

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ELLANE DE MACEDO ROCHA

**Perfil de resistência de estirpes de *Salmonella* heidelberg isoladas de
fonte avícola.**

AREIA – PB

2019

ELLANE DE MACEDO ROCHA

Perfil de resistência de estirpes de *Salmonella* heidelberg isoladas de fonte avícola.

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal da Paraíba, como requisito para o recebimento do bacharel em medicina veterinária.

Orientador: Artur Cezar de Carvalho Fernandes

AREIA- PB

2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A663a Araújo, Eros Jofily Fernandes Soares.

Achados histopatológicos em linfonodos
pulmonares de
bovinos destinados ao abate em matadouros nas regiões
do Brejo e Curimataú paraibano / Eros Jofily Fernandes
Soares Araújo. - Areia, 2019.
40 f. : il.

Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Inspeção. 2. Necropsia. 3. Saúde Pública. I. Título

UFPB/CCA-AREIA

ELLANE DE MACEDO ROCHA

Perfil de resistência de estirpes de *Salmonella* heidelberg isoladas de fonte avícola.

Trabalho de Conclusão de curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba.

Aprovado em: __/__/____

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Artur Cezar de Carvalho Fernandes (Orientador)

Médico Veterinário Walter Henrique Cruz Pequeno
Universidade Federal da Paraíba

Médica Veterinária Iolanda Costa Rocha
Universidade Federal da Paraíba

A minha família, meu filho, noivo e amigos, por todo o amor em mim depositado,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, as bênçãos a mim concedidas, as felicidades vividas, a força conquistada e a paciência obtida.

Aos meus pais Rubevânia de Macedo e Edvard Rocha por todo apoio, emocional e \$\$\$, pois sei o quanto foi difícil me manter numa cidade diferente. Os amo com todo o meu ser.

Ao meu noivo Wallyson pelas palavras de carinho e apoio, pela disponibilidade em sempre ajudar, pelas idas para areia e desculpa por cada vez ser um desencontro diferente, o como esquecer uma caminhada de 2 km da triunfo até a universidade, enfim, e principalmente obrigada pelo amor, por me amar e me fazer a mulher mais feliz do mundo.

Ao meu filho Levi, mesmo sem falar foi muitas vezes meu consolo, minha fortaleza, minha fonte de calma, a mamãe te ama do fundo do coração.

À Isadora Le Campion, por ser você, pois muitos pensam que você é uma pessoa confuseira, mas eu sei muito bem o tamanho do seu coração. Sem seus conselhos, esse TCC, sem dúvida nenhuma em afirmar, não teria saído, além de todos os momentos que vivemos juntas nesse percurso, que serviram pra marcar imensamente essa graduação, você foi minha melhor amiga, colega de apartamento e professora nas horas vagas!

Ao Emmanuel Fialho pela amizade e disponibilidade de me ajudar, sempre que necessário.

Ao Jardel Souza pela incrível paciência em tentar me ensinar estatística.

À Luana Teles pela ajuda, nas muitas vezes em que eu tinha muitos afazeres e você sempre me socorreu.

Aos técnicos do laboratório da preventiva, Vania, Diogo e Gilzane, pois muito me ajudaram no experimento, em especial a Vania, por ter me ensinado como fazer um antibiograma.

Ao Robeci Macedo por me ajudar sempre que necessário e por ser o responsável por me trazer para a medicina veterinária, sem o seu conselho, provavelmente eu não estaria apresentando esse trabalho de conclusão de curso.

Aos meus amigos, Islanael, Taiane, Raissa, Cristiana, Mylena e Bianca por toda a ajuda, palavras e amizade.

Aos meus sogros Zuleika e Alexandre por me ajudarem tanto, cuidando de Levi.

À Iolanda Costa e Walter Pequeno por ter aceitado o convite de participar de um momento tão especial para mim.

Aos incríveis professores que ofereceram seu conhecimento, formando assim o profissional que sairei dessa universidade.

Ao meu orientador Artur Fernandes, por ter aceitado me orientar e pelos ensinamentos.

Do fundo do meu coração, torcendo para não ter esquecido ninguém, ofereço o meu sincero MUITO OBRIGADA a todos vocês!

RESUMO

As bactérias do gênero *salmonella* spp. são responsáveis por 80,3 milhões de casos de infecções alimentares, sendo os principais sorotipos envolvidos: *S. enteritidis* (SE), *S. typhimurium* (STM) e *S. heidelberg* (SH). Casos esses que ocorrem devido o consumo de ovos crus ou semicozidos, ou pela manipulação de carcaças de frango contaminadas, onde pode ocorrer contaminação cruzada com vegetais, utensílios de cozinha. Essas bactérias costumam se espalhar de maneira muito rápida pelos plantéis e visando que o crescimento das aves não seja comprometido, os produtores fazem uso de antibióticos como promotores de crescimento. O seu uso indiscriminado acarreta o aparecimento de cepas multirresistentes. O objetivo desse trabalho é de caracterizar a susceptibilidade a antibacterianos, através de antibiogramas, de vinte estirpes de *Salmonella* subespécie sorotipo Heidelberg isoladas de carcaças de frango e amostras humanas. Foram testados os seguintes antimicrobianos: ácido nalidíxico, amoxicilina com clavulanato, aztreonam, cefalotina, cefepime, cefotaxima, cefoxitima, cloranfenicol, gentamicina, norfloxacin, tetraciclina e sulfametoxazol com trimetoprim. No presente estudo o ácido nalidíxico foi o menos eficaz apresentando 55% de resistência, seguidos pela amoxicilina com clavulanato com 40%, Cefalotina com 25%, gentamicina e cefotaxima com 15%, tetraciclina, cefotaxima e ceftazidima com 10%, norfloxacin e cloranfenicol com 5% e sulfametoxazol com Trimetoprim, aztreonam e cefepime com 100% de cepas sensíveis. Concluindo assim, que o uso de antibacterianos na produção avícola causa graves danos à saúde pública, mesmo sendo proibidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Palavras-chave: Avicultura, saúde pública, multirresistência.

ABSTRACT

Bacteria of the genus *salmonella spp.* are responsible for 80.3 million food-borne diseases infections, the main serotypes involved are: *S. Enteritidis (SE)*, *S. Typhimurium (STM)* and *S. Heidelberg (SH)*. These cases occur due to the consumption of raw or half boiled eggs, or the handling of contaminated chicken carcasses, where may occur cross-contamination with vegetables, cooking utensils, etc. These bacteria usually spread very quickly across the roster and, aiming to prevent bird growth from being compromised, growers make use of antibiotics as growth promoters. Its indiscriminate use is causing the emergence of multiresistant strains. The objective of this work was to characterize, antibacterial susceptibility with antibiograms with twenty strains of *Salmonella enteric* serotype (Heidelberg's serotypes) isolated from chicken carcasses and human samples. The following antimicrobials were tested: amoxicillin with clavulanate, aztreonam, cephalothin, cefepime, ceftazidime, ceftiofur, cefotaxime, chloramphenicol, gentamicin, nalidixic acid, norfloxacin, tetracycline and sulfamethoxazole with trimethoprim. Where nalidixic acid was the least effective at presenting 55% resistance, followed by amoxicillin with clavulanate 40%, cephalothin with 25%, gentamicin and cefotaxime with 15%, tetracycline, cefotaxime and ceftazidime with 10%, norfloxacin and chloramphenicol with 5% and sulfamethoxazole with trimethoprim, aztreonam and cefepime with 100% of sensitive strains. Concluding that the use of antibacterials in poultry production causes serious damage in public health, even though it is prohibited by the Ministry of Livestock and Food Supply.

Keywords: aviculture, multiresistant, public health.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1. Regressão logística nominal.....	25
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Perfil de resistência das amostras de <i>Salmonella</i> Heidelberg.....	26
Tabela 2. Padrões de resistência e multirresistência das amostras de <i>Salmonella</i> Heidelberg.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMC	amoxicilina + clavulanato
ATM	aztreonam
CAZ	ceftazidime
CFL	cefalotina
CFO	cefoxitima
CLO	cloranfenicol
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
COM	cefepime
CTX	cefotaxime
DNA	ácido desoxirribonucleico
ESBL	β -lactamases de espectro estendido
GEN	gentamicina
H ₂ S	gás sulfídrico
HIV	vírus da imunodeficiência humana
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mRNA	RNA(ácido ribonucleico) mensageiro
NAL	ácido nalidixico
NOR	norfloxacin
OMS	Organização Mundial da Saúde
Ph	potencial Hidrogeniônico
qnr	plasmídeo de resistência a quinolona
SE	Salmonella Enteritidis
SH	Salmonella Heidelberg
STM	Salmonella Typhimurium
SUT	sulfametoxazol + trimetoprim
TET	tetraciclina
TSA	Ágar Tryptic Soy
UFC	Unidade formadora de colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

% porcentagem

kg quilograma

ml mililitros

nº número

°C centígrados

US\$ dólar

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	14
2.	OBJETIVO	15
2.1.	GERAL.....	15
2.2.	ESPECÍFICO	15
3.	Revisão bibliográfica	15
3.1.	O gênero <i>Salmonella</i>	15
3.2.	<i>Salmonella</i> spp e saúde pública	16
3.3.	Multirresistência a antibióticos em estirpes de <i>Salmonella</i> spp.	17
3.4.	Avicultura Industrial Brasileira	18
3.5.	Antibacterianos	19
3.5.1.	Quinolonas.....	19
3.5.2.	β -lactâmicos.....	20
3.5.3.	Aminoglicosídeos	21
3.5.4.	Cloranfenicol	22
3.5.5.	Tetraciclina	22
3.5.6.	Sulfonamidas e Trimetoprim.....	23
4.	METODOLOGIA	24
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
6.	Conclusão	29
7.	REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

A bactéria *Salmonella* é uma das principais causadoras de doenças transmitidas por animais no mundo, a salmonelose segundo Lourenço e Valls (2006) é uma zoonose muito importante para a saúde pública estima-se que 80,3 milhões dos casos anuais de doenças transmitidas por alimentos aos seres humanos sejam decorrentes de infecções por bactérias pertencentes ao gênero *Salmonella* (MAJOWICZ et al., 2010). Os sorotipos *S. enteritidis* (SE) e *S. typhimurium* (STM) e *S. heidelberg* (SH) são alguns dos mais frequentes, representando 57%-67% dos isolados anualmente (WHO, 2010).

A maioria dos casos de infecções alimentares por *Salmonella* spp. está relacionada com produtos de origem avícola, ocorrendo pelo consumo de ovos crus ou semicozidos; ou ainda, por contaminação cruzada na cozinha, envolvendo vegetais, utensílios domésticos e carcaças de frango contaminadas.

A alta densidade dos plantéis avícolas torna o ambiente favorável à propagação de agentes patogênicos. Uma vez introduzida na criação de aves, *Salmonella* spp. se espalha facilmente pelo lote, podendo atingir os produtos de origem avícola e provocar infecção alimentar nos consumidores. Essa bactéria faz parte da microbiota normal das aves em pequena quantidade, porém com alguma baixa de imunidade elas tendem a se desenvolver e as galinhas, seus hospedeiros naturais começam a eliminar o patógeno. Neste contexto, vale destacar que a SH está entre os sorotipos de *Salmonella* mais prevalentes no Brasil. Tem sido constantemente isolado de carcaças e lotes de frangos de corte produzidos no País (PANDINI et al., 2015; VOSS-RECH et al., 2015).

O uso dos antibacterianos como promotores de crescimento para controle de *Salmonella* spp. nas produções avícolas tem levado ao surgimento de estirpes multirresistentes. Na União Europeia, a utilização de antimicrobianos como promotores de crescimento na produção animal está proibida desde 2006. No entanto, no Brasil várias classes de antibióticos ainda são empregues como promotores de crescimento na avicultura. Multirresistência a vários antibióticos, incluindo ceftiofur (cefalosporina de terceira geração), tem sido regularmente relatada em isolados de SH causadoras de surtos de infecção alimentar em humanos nos Estados Unidos e Canadá (CDC, 2014; OTTO et al., 2014; VOSS-RECH et al., 2015), elevando ainda mais a preocupação das autoridades de saúde pública desses países.

Diferentes métodos são utilizados para a caracterização das cepas do gênero *Salmonella*. Os métodos fenotípicos são aqueles que se baseiam nas características expressas pelas bactérias, a determinação do padrão de suscetibilidade a antibacterianos comumente é utilizado como auxílio na detecção de cepas resistentes, logo se tornando de grande valia na busca da antibioticoterapia adequada.

Pouco se sabe a respeito do perfil de resistência dessas bactérias, logo se justifica a importância do presente estudo, para alertar para a iminência de superbactérias, que não respondem as principais classes de antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções em humanos.

2. OBJETIVO

2.1. GERAL

Determinação da resistência de estirpes *Salmonella* sorotipo heidelberg isoladas de fonte avícola aos antibacterianos mais utilizados no tratamento em humanos com salmonelose.

2.2. ESPECÍFICO

Utilizar o método de difusão com discos de antibióticos para construir os perfis de 20 estirpes de *Salmonella* heidelberg isoladas em criações de aves.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. O gênero *Salmonella*

Os membros da família enterobacteriaceae são bacilos Gram-negativos, podendo ser imóveis ou móveis, utilizando flagelos peritríquios. São anaeróbios facultativos, podendo apresentar metabolismo aeróbico ou fermentativo. A grande maioria das espécies se desenvolvem bem em temperaturas em torno 37 graus, podendo suportar temperaturas bem mais altas. Existem gêneros psicotróficos frequentemente encontrados no solo, água e trato gastrointestinal de humanos e animais (HOLT et al., 1994)

Essas bactérias são seres capazes de metabolizar nutrientes, produzir gás a partir da fermentação de glicose, não fermentam sacarose, malonato ou lactose. Produzem gás sulfídrico (H₂S) em sua maioria, utilizam citrato como fonte de carbono,

reduzem nitrato a nitrito, não hidrolizam uréia, são oxidase negativa, catalase positiva e não produzem urease e indol. A maioria descarboxila lisina e ornitina, não desaminam os aminoácidos fenilalanina e triptofano (HOLT et al., 1994).

O gênero *Salmonella* é dividido nas espécies *enterica* e *bongori*. *Salmonella entérica*, por sua vez, é subdividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (BERCHIERI JUNIOR; FREITAS NETO, 2009), incluindo Gallinarum, Enteritidis, Typhimurium e Heidelberg. (GRIMONT, 2007). Esses sorotipos são identificados baseando-se na reação de antissoros presentes na parede celular bacteriana, envolvendo: o antígeno somático (O), antígeno flagelar (H) e antígeno capsular de virulência (Vi)

3.2. *Salmonella* spp e saúde pública

Os principais alimentos implicados na transmissão de *Salmonella* spp. aos seres humanos são os ovos, carne de aves e seus derivados (WHO, 2014). A contaminação das carcaças de frango ocorre durante processamento na indústria, principalmente nas fases de escaldagem, depenagem, evisceração e refrigeração. Ao manusear vegetais e verduras conjuntamente com carne de aves contaminada, pode ocorrer contaminação cruzada dos primeiros e, conseqüentemente, casos de infecção após sua ingestão (CARRASCO et al.; 2012).

Pessoas infectadas por *Salmonella* spp. geralmente apresentam febre, cefaleia, cólicas abdominais e diarreia entre 12 a 72 horas depois do consumo de alimentos ou bebidas contaminadas. A infecção tem duração de 4 a 7 dias e a maioria das pessoas se recuperam sem a necessidade de antibioticoterapia. Geralmente é mais grave em idosos, crianças, gestantes e imunodeprimidos, nos quais a infecção pode se disseminar pela corrente sanguínea, atingindo outros órgãos. Em casos mais graves, pode provocar morte (CDC, 2010).

Segundo dados do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), de 2002 a 2012, SH ocupou sempre o ranque dos 10 sorotipos mais envolvidos em surtos de infecção alimentar em humanos nos Estados Unidos (CDC, 2012). Em estudo conduzido no Brasil, a partir das 155 estirpes de *Salmonella* isolados de criações de frango de corte da região Sul entre os anos de 1995 a 2010, o sorotipo Heidelberg foi o mais isolado (40,6%) (PULIDO-LANDINEZ et al.; 2013)

No Brasil, muitos dos surtos de infecção alimentar por *Salmonella* spp. permanecem sem investigação. Até o momento, não há relatos na literatura do envolvimento de SH de origem aviária em surtos de infecção alimentar no Brasil. No entanto, é possível que este sorotipo esteja de fato implicado em surtos ocorridos no país. Nos Estados Unidos, entre 2013 e 2014, um surto provocado por SH multirresistente, veiculada por carne de frango, afetou 634 pessoas de 29 estados. Destas, 38% foram hospitalizadas (CDC, 2014).

3.3. Multirresistência a antibióticos em estirpes de *Salmonella* spp.

A resistência à agentes antimicrobianos é proveniente de modificações na estrutura de bactérias que podem ocorrer de forma aleatória, devido a alterações no material genético do microrganismo, ou por meio da aquisição de material genético de fontes externas, como vírus, outras bactérias e do ambiente. (FIOCRUZ, 2018)

No Brasil, a utilização de anfenicóis, tetraciclina, β -lactâmicas (benzilpenicilâmicos, cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas sistêmicas na cadeia produtiva de alimentos de origem animal é proibida desde 2009 pela Instrução Normativa nº 26, 9/07/2009, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

A terapia das infecções por *Salmonella*, tanto em animais quanto em humanos, tem sido dificultado devido à emergência de estirpes resistentes a múltiplos agentes antimicrobianos. As fluoroquinolonas, como a ciprofloxacina, e as cefalosporinas de terceira geração, como a ceftriaxona, são comumente usados para tratar infecções severas causadas por *Salmonella*. Entre membros da família Enterobacteriaceae, a resistência ao ácido nalidíxico está relacionada à diminuição da suscetibilidade à ciprofloxacina e, possivelmente, a falhas no tratamento (TAMANG et al., 2011).

De acordo com o relatório anual do programa nacional de monitoramento da resistência nos Estados Unidos, 72% dos isolados de *S. Enteritidis* eram resistentes ao ácido nalidíxico. A resistência ao ceftiofur está correlacionada à resistência a ceftriaxona em Enterobacteriaceae. A resistência a ceftriaxona foi observada mais comumente em SH (8,6%), STM (6,8%) e *S. Newport* (3,9%) (NARMS, 2011). Como as fluoroquinolonas e as cefalosporinas são os antimicrobianos de escolha para o tratamento de casos mais severos de salmoneloses

em seres humanos, a emergência de resistência a essas duas classes desperta preocupação em saúde pública.

Nos últimos anos, o aumento na prevalência de estirpes de *Salmonella* multirresistentes tem sido um problema global. Os sorotipos de *Salmonella* que frequentemente apresentam perfis de multirresistência são STM e SH (NARMS, 2013). O sorotipo Typhimurium pertencente ao fagotipo DT104 foi identificado na década de noventa como um clone multirresistente associado ao uso de agentes antimicrobianos em animais (THRELFALL, 2000). Esse fagotipo exibe resistência a cinco agentes antimicrobianos: ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfonamidas e tetraciclina.

VOSS-RECH et al. (2015) analisou o perfil de resistência de 82 estirpes de *Salmonella* isoladas de criações de frangos de estados da Região Sul do Brasil. Destas, 60% eram resistentes a pelo menos um antimicrobiano e 9,7% a três ou mais classes. Resistência à tetraciclina foi a mais encontrada no estudo, sendo que o sorotipo Livingstone o que apresentou o perfil com resistência a mais classes de antibióticos. Embora nos últimos anos tenha ocorrido aumento da frequência de isolamento do sorotipo Heidelberg em criações de aves e produtos de origem avícola brasileiros (PULIDO-LANDÍNEZ et al., 2013), as informações a respeito do perfil de resistência dessas estirpes ainda são escassas.

3.4. Avicultura Industrial Brasileira

A indústria avícola brasileira destaca-se como uma das mais produtivas. O Brasil é o maior exportador de carne de frango, liderança conquistada em 2004, após o surto de Influenza aviária, que afetou a produção e causou o sacrifício de mais de 120 milhões de aves. Apesar da produção de frango se dar em todo o país, é na região Sul que se predomina esta atividade. O Paraná é o maior produtor de frangos no Brasil, seguido por Santa Catarina e Rio Grande do Sul (ABPA, 2016)

Segundo o relatório da ABPA (2016) a produção de frango superou 13,1 milhões de toneladas assumindo o segundo lugar mundial, que antes era da China. Em conjunto com os Estados Unidos, o Brasil exportou 72% do total comercializado. Considerando valor da receita bruta dos principais produtos agropecuários nos anos de 2005 e 2006, a carne de frango figura entre os cinco mais importantes no PIB do Brasil. Os outros quatro produtos são: soja, carne bovina, milho e cana-de-açúcar em

termos de receita de exportações, a carne de frango movimentou entre janeiro e outubro de 2015, um total de US\$ 5,879 bilhões. Os principais compradores são: Arábia Saudita, Japão, União Europeia, Emirados Árabes Unidos, China e Hong Kong. No mercado interno, a carne de frango também é bastante consumida sendo o consumo médio per capita/ano foi de 37,8 kg.

3.5. Antibacterianos

3.5.1. Quinolonas

Quinolona é um grupo constituído por antimicrobianos sintéticos, ou seja, quimioterápicos, foi desenvolvido a partir de um composto chamado quinina. Estes quimioterápicos possuem ação bactericida e de amplo espectro. (ANDERSSON e MACGOWAN, 2003; VAN BAMBEKE et al., 2005). São classificados em gerações, primeira, segunda, terceira e quarta geração.

O ácido nalidíxico foi a primeira quinolona a ser produzida e introduzida na clínica médica, possui ação contra bactérias gram negativos e baixa ação contra gram positivos, sendo utilizado principalmente para infecções do trato urinário. A partir da década de 80 foi introduzido a molécula de flúor, dando origem as fluoroquinolonas, que tem ação ampliada sobre os micro-organismos gram positivos e gram negativos. (BALL, 2000; HAWKEY, 2003).

As quinolonas são amplamente utilizadas no tratamento de infecções humanas, e na profilaxia e tratamento de infecções de animais (HEUER et al., 2009). Segundo FALCÃO et al., (2003), as fluoroquinolonas são o terceiro grupo de antimicrobianos mais prescritos no Brasil.

Segundo levantamento realizado em 2004 no estado do Paraná, esses antibacterianos são os medicamentos mais utilizados, como medida profilática e terapêutica, na criação de frango de corte. Este relatório destaca também o uso inadequado de enrofloxacin e norfloxacin como promotores de crescimento (PARANÁ, 2005).

Os mecanismos de resistência variam entre os indivíduos, normalmente consistem em mutações nas enzimas DNA-girase e topoisomerase IV, expressão de sistemas de efluxo, alterações ou ausência de porinas, proteção de sítio alvo, e modificação do antimicrobiano. A disseminação de alguns mecanismos de resistência

ocorre principalmente por meio de genes carregados por plasmídeos (ALÓS, 2009; BOLON, 2011).

3.5.2. β -lactâmicos

Os representantes desse grupo são as penicilinas, cefalosporinas, carbapeninas, oxapeninas e monobactamas (GUIMARÃES, 2010). São agentes antibacterianos que inibem irreversivelmente a enzima transpetidase, que catalisa a reação de transpeptidação entre as cadeias de peptideoglicana da parede celular bacteriana (Nicolaou, 2008). Constituem a primeira classe de derivados de produtos naturais utilizados no tratamento terapêutico de infecções bacterianas.

O grande marco no tratamento das infecções bacterianas ocorreu com a descoberta da penicilina (Walsh, 2003), por Alexander Fleming, em 1928, que foi muito utilizada principalmente na Segunda Guerra Mundial. O maior número de antibióticos b-lactâmicos em uso clínico pertence à classe das cefalosporinas, que estão subdivididas em cefalosporinas de primeira, segunda, terceira e quarta gerações, em função do espectro de ação mais ampliado frente a bactérias gram negativo (GUIMARÃES, 2010). Quando se trata de salmonelose a ampicilina foi durante muitos anos o b-lactâmico de primeira escolha. Porém, o surgimento de cepas resistentes tem dificultado o tratamento de infecções por *Salmonella* invasiva, fazendo com que as cefalosporinas de terceira geração, como a cefotaxima, sejam uma opção terapêutica, especialmente em crianças e adolescentes. (HOHMANN, 2001; SU et al., 2004).

Por conseguinte, os carbapenêmicos, como o imipenem, podem representar o último recurso terapêutico em pacientes com infecção por *Salmonella* multirresistente (JEAN et al., 2005). No entanto, deve-se atentar para o surgimento de cepas de *salmonella* resistentes aos carbapenêmicos, pois não existe outra droga para substituir estes antibióticos na prática médica (SU et al., 2012).

O mecanismo mais comum de resistência a esses antibióticos é a secreção de β -lactamases que hidrolisam o anel b-lactâmicos, inativando o antimicrobiano e impedindo sua ação contra a parede celular bacteriana (ALCAINE et al., 2007; Alterthum, 2008). A resistência a penicilinas é observada principalmente na expressão de genes de β -lactamases de espectro estendido (ESBL).

3.5.3. Aminoglicosídeos

Os antibióticos aminoglicosídeos são parte importante do arsenal terapêutico antibacteriano desde seu descobrimento, na década de 40. Segundo ANVISA (2011), o Departamento de Microbiologia da Unidade de Agricultura Experimental da Universidade Rutgers, de New Jersey, nos Estados Unidos isolou uma cepa de *Streptomyces griseus*, que produzia uma substância que inibia o crescimento do bacilo da tuberculose e de diversos micro-organismos Gram-positivos e Gram negativos, e a partir daí, em 1944, a estreptomicina foi isolada. A partir disso ocorreram várias descobertas de novas substâncias com potencial antibacteriano, derivadas dos actinomicetos.

Os aminoglicosídeos têm peso molecular que varia de 445 a 600 daltons, são altamente solúveis em água, estáveis em pH 6 a 8 e possuem estrutura polar catiônica, o que impede a sua absorção oral e dificulta sua penetração no espaço intracelular ou através da barreira hematoencefálica (GILBERT et al, 1995).

Sua atividade antimicrobiana ocorre principalmente em meio aeróbio e em pH alcalino, pois necessita de oxigênio para transporte ativo nas células microbianas e é mais ativo em meio alcalino do que ácido. Devido a sua natureza polar, são pouco absorvidos pelo trato gastrintestinal, sendo que menos de 1% da dose é absorvida após administração oral ou retal. A principal via de administração é, portanto, parenteral, com a droga atingindo concentração plasmática máxima depois de 30-90 minutos da aplicação intramuscular, e 30 minutos após sua injeção intravenosa (OLIVEIRA et al, 2006). A meia vida sanguínea é de duas a três horas, nos pacientes com função renal normal (JANA; DEB, 2006).

A atividade bactericida destes antibióticos se deve a sua capacidade de inibir a síntese proteica por se ligarem à subunidade ribossomal 30S, incapacitando o ribossomo bacteriano para a tradução, o que resulta em morte celular (KOTRA et al, 2000). Os aminoglicosídeos são frequentemente utilizados para tratar infecções causadas por bacilos Gram-negativos (SHAW et al., 1993; GALIMAN et al., 2003). Os seus efeitos tóxicos mais importantes são nefrotoxicidade, ototoxicidade e bloqueio neuromuscular (REINHARD et al, 1991).

Os principais mecanismos de resistência são: a redução da concentração do antibiótico no interior da célula devido a existência de sistemas de efluxo ativos,

alteração do alvo do antibiótico por mutação espontânea e/ou por alteração estrutural ou através de sistemas de inativação enzimática (WALSH, 2000; AZUCENA; MOMBASHERY, 2001; WALMSLEY, 2001).

3.5.4. Cloranfenicol

Esse antibacteriano foi isolado a primeira vez do micro-organismo *Streptomyces venezuela*. Atualmente o cloranfenicol é sintetizado e somente o isômero R,R é ativo. O mecanismo de ação baseia-se na ligação com a subunidade 30S do ribossomo e parece inibir o movimento dos ribossomos ao longo do mRNA, provavelmente pela inibição da peptidil transferase, responsável pela extensão da cadeia peptídica, impedindo assim a síntese proteica bacteriana.

É um medicamento hidrolisado no trato digestivo antes de ser absorvido, atingindo pico sérico em 1 a 2 horas. Penetra na maioria dos fluidos orgânicos, incluindo os líquidos pleural, peritoneal e sinovial. Atinge no liquor a metade da concentração plasmática na presença ou não de inflamação das meninges. Por ser lipofílico, alcança no parênquima cerebral concentração até 9 vezes maior que a do plasma. É conjugado no fígado e secretado pelos rins. Somente 10 a 20% da droga ativa é secretada pelos rins. (ANVISA, 2007).

O mecanismo de resistência pode ser adquirido através da troca plasmídeos ou alterações de permeabilidade à droga. Mais frequentemente, a resistência é determinada pela produção de uma enzima, acetiltransferase ou nitrorredutase, que inativa o composto.

3.5.5. Tetraciclínas

As tetraciclínas são antibióticos poliketídicos bacteriostáticos de amplo espectro e bastante eficazes frente a diversas bactérias aeróbicas e anaeróbicas gram positivo e gram negativo. Atuam inibindo a síntese de proteínas através da ligação com a subunidade 30S dos ribossomos, impedindo a ligação do aminoacilRNA. Como resultado, a adição de novos aminoácidos para o aumento da cadeia proteica é bloqueada. A liberação de proteínas também é inibida (PATRICK, 2005).

Sua absorção oral é prejudicada quando ingerida concomitante a alimentos, antiácidos, leite e ferro. É encontrada em pequena quantidade em muitos fluidos orgânicos como: pulmões, fígado, rins, cérebro, escarro, líquido

cefalorraquidiano (10 a 26% do nível sérico), líquido sinovial, mucosa dos seios nasais e líquido biliar. Atravessam a barreira transplacentária e são excretadas no leite materno. Todas as tetraciclina são eliminadas pela urina e fezes, sendo a via renal a mais importante. (ANVISA, 2007).

O principal mecanismo de resistência microbiana é por diminuição da acumulação da droga no interior da célula, através de bomba de efluxo e mudança na permeabilidade externa da membrana.

3.5.6. Sulfonamidas e Trimetoprim

As sulfonamidas, também conhecidas como sulfas, são medicamentos bacteriostáticos, que foram testados pela primeira vez nos anos 1930 como fármacos antibacterianos, com o aparecimento da sulfacrisoidina, que foi o primeiro agente antimicrobiano utilizado clinicamente, em 1935, marcando o início da moderna era da quimioterapia antimicrobiana. Um exemplo de sulfa ainda utilizada na terapêutica é o sulfametoxazol, em associação com o trimetoprim, para o tratamento de pacientes com infecções no trato urinário e também para pacientes portadores do vírus HIV que apresentam infecções por *Pneumocystis carinii* (Walsh, 2003).

O sulfametoxazol é comumente empregado em associação com o trimetoprim, uma diamino-pirimidina. O efeito das duas drogas é sinérgico, pois atuam em passos diferentes da síntese do ácido tetra-hidrofólico (folínico). O sulfametoxazol bloqueia a enzima di-hidropteroato sintetase, presente apenas nas bactérias, enquanto o trimetoprim inibe a di-hidrofolato redutase. Ambas as enzimas atuam na via de biossíntese do N5,N10-metileno-tetra-hidrofolato, importante cofator que fornece uma unidade de carbono na biossíntese de bases pirimidínicas constituintes dos ácidos nucleicos.

São absorvidos no tubo digestivo, atingindo altos níveis séricos e apresentam alta ligação proteica. Distribuem-se amplamente nos tecidos, atingindo níveis terapêuticos nos líquidos cefalorraquidiano, sinovial, pleural e peritoneal, com concentração de cerca de 80% da plasmática. São metabolizadas pelo fígado e a excreção é renal (ANVISA, 2003).

A resistência a sulfas pode ocorrer por mutação, através de plasmídeos ou por transposons, levando à produção aumentada de ácido para-aminobenzóico ou à

síntese de diidropteróico sintetase que apresentam pouca afinidade pelo antimicrobiano e aumentam a permeabilidade da membrana plasmática. A resistência ao trimetoprim pode ocorrer por modificação na enzima diidrofolato redutase (Walsh, 2003).

4. METODOLOGIA

As estirpes foram cultivadas no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade Federal da Paraíba. Foram utilizadas 20 estirpes de *Salmonella Heidelberg* cedidas já tipificadas, pelo laboratório de Ornitopatologia do Departamento de Patologia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal, São Paulo. Estas foram isoladas de aves e carcaças de frangos produzidos em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul. E foram tipificadas no Instituto Adolfo Lutz e na fundação Oswaldo Cruz, no ano de 2014.

A susceptibilidade antimicrobiana dos isolados de *Salmonella Heidelberg* foi determinada usando o método de Disco-Difusão (Kirby-Bauer), seguindo as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013). Obedecendo as seguintes etapas: cultivou-se as bactérias em placas com Ágar Tryptic Soy (TSA) e as incubou em estufa bacteriológica à 37°C, por 24 horas, após esse tempo, o cultivo foi suspenso em solução salina estéril (0,9%) em tubo, de forma a obter a suspensão com turvação equivalente a 0,5 na escala de McFarland, o que equivale a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Posteriormente, com auxílio de swabs a suspensão foi semeada em placas com Ágar Müller-Hinton e os discos dispostos em distâncias adequadas e incubadas por mais 24 horas à 37°C. Após esse período, as leituras dos halos de inibição formados foram realizadas com o auxílio de uma régua. A sensibilidade dessas estirpes foi determinada seguindo informações do CLSI, definido em sensível, resistente ou inconclusivo, acompanhando os valores contidos na tabela de normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana.

Foram utilizados um disco de cada antibacteriano para cada antibiograma, foram utilizados os seguintes antimicrobianos: amoxicilina + clavulanato (AMC, 20/10 µg), ácido nalidixico (NAL, 30 µg), aztreonam (ATM, 30 µg), cefalotina (CFL, 30 µg), cefepime (CPM, 30 µg), cefotaxime (CTX, 30 µg), cloranfenicol (CLO, 30 µg), ceftazidime (CAZ, 30 µg), ceftoxitima (CFO, 30 µg), gentamicina (GEN, 10 µg),

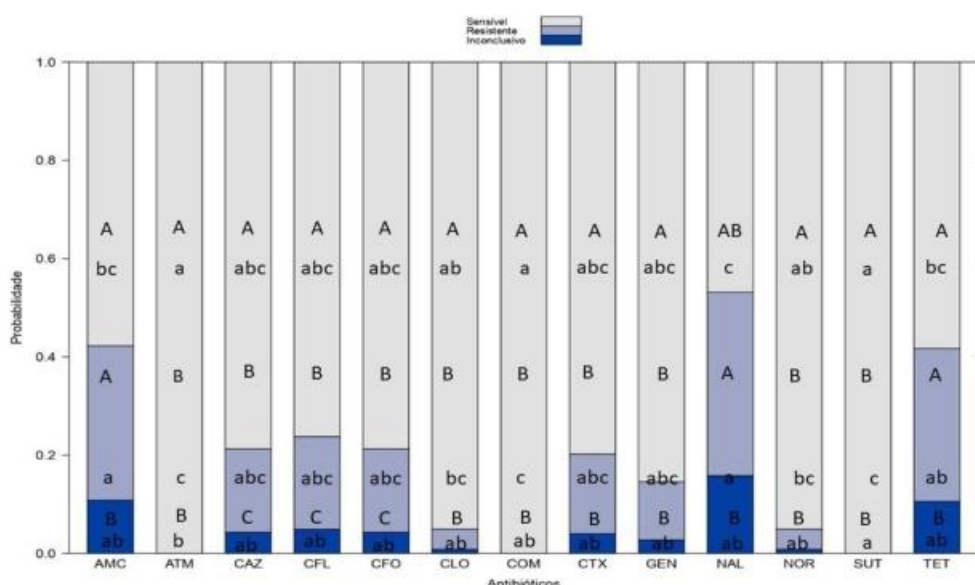
norfloxacin (NOR, 10 µg), tetraciclina (TET, 30 µg), e sulfametoxazol + trimetoprim (SUT, 23,75/1,25 µg).

Para exame dos resultados encontrados foi realizado uma análise estatística de regressão logística nominal no software R e teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do teste de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos demonstraram que as cepas de *Salmonella* Heidelberg apresentaram resistência ao ácido nalidíxico (55%), amoxicilina com clavulanato (40%), cefalotina (25%), gentamicina (15%), cefotaxima (15%), ceftazidima (10%), tetraciclina(10%), norfloxacin (5%) e cloranfenicol (5%) (Tabela 1). Os antibacterianos que foram eficazes para todas as cepas, são: sulfametazol com trimetoprim, aztreonam e cefepime. Em geral, foram observados nas amostras três padrões de resistência única e sete padrões de multirresistência, variando de dois a cinco antimicrobianos (Tabela 2).

Figura 1. Regressão logística nominal.



Letras minúsculas iguais entre as linhas e letras maiúsculas iguais entre as colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 1. Perfil de resistência de estirpes de *Salmonella* Heidelberg isoladas de fonte avícola.

Perfil de resistência a antimicrobianos																							
ANTIBACTERIAIS	Estirpes																				Total R	Total I	Total S
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
CLO	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	1	0	19
GEN	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	3	0	17
TET	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	I	S	I	I	S	I	I	S	S	R	2	5	13
AMC	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	S	S	S	S	R	8	1	11
CFL	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	5	0	15
NOR	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	1	0	19
NAL	S	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	11	0	9
SUT	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0	0	20
CAZ	S	S	S	S	S	R	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	2	2	16
ATM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0	0	20
COM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0	0	20
CFO	S	S	S	S	S	R	I	S	S	I	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	2	2	16
CTX	S	S	S	S	S	R	R	I	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	3	1	16

Legenda: R, resistente; S, sensível; I, inconclusivo (resistência mínima) NAL, ácido nalidíxico; AMC, amoxicilina/ácido clavulânico; CFL, cefalotina; CLO, cloranfenicol; GEN, gentamicina; TET, tetraciclina. CAZ, Ceftazidima; CEX, cefoxitima; CFX, Cefotaxima, COM, cefepime.

As cepas que apresentaram resultado inconclusivo, são aquelas que o halo de inibição produzida pelo antibiótico não foi suficiente para ser considerado sensível, porém não são consideradas resistentes, pois da mesma forma, o halo de inibição foi maior que a variação considerada pelo CLSI.

Os resultados relacionados com a gentamicina na literatura ratificam os encontrados no presente estudo, pois Tavechio et al., (2006) após isolamento de *Salmonella spp.* de fontes humanas e não-humanas, constatou a resistência de 3 cepas a gentamicina, inclusive com padrões de penta-resistência, em conjunto com ácido nalidíxico, Canamicina, tetraciclina e nitrofurantoína. Pode-se inferir que tal resultado se deve a utilização frequente da gentamicina em animais de produção, pelo

seu baixo custo, portanto erroneamente é utilizada por produtores como promotores de crescimento.

A tetraciclina está entre os antibióticos que mais obteve sucesso na inibição do crescimento das bactérias, se não incluirmos as resistências mínimas, que esteve presente em 5 cepas. Diferentemente, Pandini *et al.*, (2013) avaliaram o perfil de resistência de cepas de *Salmonella* spp. em que o sorotipo Heidelberg foi o mais prevalente entre as isoladas e encontraram o maior índice de resistência à tetraciclina do teste de suscetibilidade aos agentes antimicrobianos com 30,8%. Tal diferença, podemos atribuir pela naturalidade das amostras, sendo elas isoladas do estado Paraná e as do atual estudo as cepas foram isoladas do estado de São Paulo, ou seja, provavelmente os promotores de crescimento mais utilizados em um estado é diferente do outro.

Segundo Pandini (2013) o ácido nalidíxico foi o antibacteriano que apresentou 100% de resistência nas cepas de *Salmonella* Heidelberg encontradas, estando presente também nos padrões de multirresistência, fato que corrobora com o resultado encontrado no presente estudo (Figura 1), em que não somente age como o mais ineficaz na inibição do crescimento bacteriano, 55% das bactérias foram resistentes, como também foi o mais encontrado nos padrões de multirresistência.

Tabela 2. Padrões de resistência e multirresistência das amostras de *Salmonella* Heidelberg.

Padrão de Resistência	Frequência de estirpes resistentes
NAL	3
AMC	1
CEX	1
GEN, AMC	1
CLO, GEN	1
CFL, NAL	1
AMC, CFL, NAL	2
AMC, CAZ, CXT	1
GEN, NAL, CXT	1
TET, AMC, CFL, NAL	1
TET, AMC, NOR, NAL	1

NAL, ácido nalidíxico; AMC, amoxicilina/ácido clavulânico; CFL, cefalotina; CLO, cloranfenicol; GEN, gentamicina; TET, tetraciclina. CAZ, Ceftazidima; CEX, cefoxitima; CFX, Cefotaxima.

Em relação a amoxicilina com clavulanato, poucas bactérias foram inibidas, apenas oito das amostras (55%), Galdino *et al.*, (2013) confirma esse padrão, pois em seus resultados a AMC constituiu a maior resistência. Gomez (2011), em seu

estudo afirma que esquemas de tratamento tradicionais para *Salmonella* incluem amoxicilina e sulfametoxazol com trimetoprim, que devem ser considerados a primeira escolha no tratamento devido ao seu baixo custo e eficácia, podendo ser utilizados em bebês e mulheres grávidas com menos efeitos colaterais. Assim como Mendonça (2016), em que os maiores índices de resistência à amoxicilina, também foram sorovares de *Salmonella* importantes para a saúde pública, apresentando 35,3% do total, esse elevado número de cepas resistentes tem aumentado a troca de antibioticoterapia escolhida, utilizando em maior quantidade as cefalosporinas de terceira geração

As cefalosporinas vem sendo utilizadas como opção para bactérias resistentes a maioria dos antibióticos, porém os resultados dos antibiogramas do estudo preocupam, pois foi observado a presença de cepas resistentes tanto a antimicrobianos de primeira geração, como a cefalotina em cinco amostras (25%), quanto as de terceira geração, representadas pela ceftazidima, cefoxitima, cefotaxima, com seis cepas resistentes e cinco apresentando resistência mínima, ou seja, onze exemplares de *Salmonella Heidelberg* com algum grau de resistência. Ocorrência que exemplifica o uso errôneo de antimicrobianos na produção avícola, pois o uso de cefalosporinas de terceira geração tem seu uso proibido na avicultura brasileira. Ribeiro *et al.*, (2018) observou também em seus resultados cepas da mesma bactéria resistente a cefalosporinas, como a ceftriaxona, que é da mesma classe. Em contrapartida, o único exemplar que constituiu eficiência na inibição foi o cefepime.

Em relação a norfloxacin, apenas uma cepa (5%) não foi inibido seu crescimento, porém observa-se que já existem cepas resistentes, pois Galdino et al., (2013) obteve 100% de inibição do crescimento bacteriano, dados que corroboram com Ruiz et al., em que caracteriza elementos que carregam o gene *qnr* como fatores que conferem resistência às quinolonas. A expressão do referido gene torna-se um agravo, pelo fato de terem o potencial de transferir de forma horizontal para os seus descendentes.

O cloranfenicol para essas cepas foi um dos mais eficazes, pois apenas 1 cepa (5%) apresentou resistência ao mesmo, Pandini (2013) também apresentou o mesmo resultado em que os únicos antimicrobianos em que não obtiveram resistência foram: cloranfenicol, gentamicina, ciprofloxacina, norfloxacin, tobramicina e

imipenem. Um fato relevante, pois a antibioticoterapia para pacientes com febre entérica é realizada com o mesmo. (Popoff, Le Minor, 2005).

Contudo, existem substâncias antibacterianas que são classificadas pela organização mundial de saúde como de alta prioridade, são elas: as fluoroquinolona, macrolídeos e cefalosporinas de terceira e quarta gerações, pois cumprem requisitos, como: ser o princípio ativo ou classe de antibióticos classificados como única terapia possível, ou existirem poucas alternativas para pacientes com infecções graves em humanos, e ser utilizado para a antibioticoterapia de doenças causadas por micro-organismos transmitidos por fontes não humanas ou doenças causadas por micro-organismos que podem adquirir genes de resistência a partir de fontes não-humanas (WHO, 2009)

Desde 2009, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), proibiu o uso de antimicrobianos como anfenicois, tetraciclina, quinolonas, sulfonamidas e B-lactâmicos, tanto as penicilinas como as cefalosporinas. Com isso, podemos concluir que tanto o uso desses antibacterianos ainda é feito por produtores, ou até mesmo houveram processos de seleção dessas bactérias, que repassaram genes de resistência as novas gerações, encontrando assim, a dias de hoje, cepas que não são inibidas pela presença dessas substâncias.

Em relação aos antimicrobianos que foram eficientes 100% eficientes, os dados confirmam o que normalmente está ocorrendo na avicultura brasileira, autores como Pandini et al (2013) também acharam apenas uma cepa resistente ao sulfametoxazol com trimetoprim Tavechio et al., (2009) em que testou bactérias do gênero *Salmonella spp.* observou todas elas sensíveis ao aztreonam e o cefepime.

6. CONCLUSÃO

Portanto, concluímos que o uso de antibacterianos na produção avícola como promotores de crescimento ou na forma metafilática, vem causando transtornos, principalmente com o aparecimento de bactérias resistentes ou até mesmo super-resistentes. Como ao ácido nalidíxico que inibiu o crescimento apenas de 9 estirpes, felizmente encontramos antibióticos ainda eficientes como o aztreonam, cefepime e sulfametoxazol com trimetoprim.

No presente estudo encontramos resistência a antibióticos criticamente importantes para a OMS, como as cefalosporinas de terceira geração, que tiveram

cepas que não foram inibidas na sua presença, esse dado é alarmante, pois essas substâncias são a terapia utilizada para tratar infecções graves em humanos.

7. REFERÊNCIAS

ALCAINE, S. D.; WARNICK, L. D., WIEDMANN, M. Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal *Salmonella*. **Journal of Food Protection**, v.70, n.3, p. 780-790, 2007.

ALÓS J. L. Quinolonas. **Enferm Infect Microbiol Clin**. 2009; 27(5):290-97.

FIOCRUZ. **Cartilha de resistência bacteriana aos antibióticos**. 2 ed. Fiocruz – Rio de Janeiro, 2017.

ANDERSSON, M. I.; Macgowan A. P. Development of the quinolones. **J Antimicrob Chemother**. 2003; ed. 51. Suppl 1:1-11.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). **Relatório anual 2016**. 2016.

BALL P. Quinolones generation: natural history or natural selection? **J Antimicrob Chemother**. 2000. Jul;46. Suppl T1:17:24.

BERCHIERI JR. A.; FREITAS, NETO, O.C. Salmoneloses aviárias. In: Berchieri Jr. A., E.N. Silva, J. Fabio, L. Sesti, M.A.F. Zuanaze. **Doença das aves**. 2. ed. Campinas, Facta, p.435-451, 2009.

BOLON M. K. The newer fluoroquinolones. **Med Clin North Am**. Jul; 95(4):793-817. Ed. VIII. 2011.

CARRASCO, E.; MORALES-RUEDA, A.; GARCÍA-GIMENO, R. M.;. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: a review. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 545-556, 2012.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION-CDC. **Salmonella surveillance: annual summary, 2013**. p. 1-71, 2013.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION-CDC. **Salmonella surveillance: annual summary**, 2006. U.S. Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, GA, 2010.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standards - Fourth Edition. CLSI document VET01-A4 (ISBN 1-56238-878-9). **Clinical and Laboratory Standards Institute**, Pennsylvania USA 2013.

EMERSON A. M.; JONES A. M. The quinolones: decades of development and use. **J Antimicrob Chemother**. 2003;51 Suppl 1:13-20.

FALCÃO J. M. Prescrição de antibacterianos em clínica geral: um estudo na rede médicos-sentinela. **Rev. Port. Clin Geral**. 2003; 19:315-29.

GALDINO, Vânia Maria Cristina Alves et al. Virulência de *Salmonella* spp. de origem avícola e resistência a antimicrobianos. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 4, 2013.

GILBERT, D.N. Aminoglycosides. In: MANDELL, G.L.; BENNETT, J.E.; DOLIN, R. **Principles and practice of infectious diseases**. 4 th ed. New York: Churchill Livingstone, p.279- 306, 1995.

GOMEZ, G. O. *Salmonella* infections: An update on epidemiology, management, and prevention, v. 154, n. 1, p.26-29, 2011.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. Antigenic formulae of the *Salmonella* Serovars. 9. ed. Paris: **Instituto Pasteur**: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, 2007. 166 p

GUIBOURDENCHE, M. et al. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, v. 161, n. 1, p.26-29, 2010.

GUIMARÃES, D. O., et al. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

HAWKEY P. M. Mechanisms of quinolone action and microbial response. **J antimicrob Chemother**. 2003;51 suppl 1:29-35.

HEUER O. E. et al. Human health consequences of use of microbial agents in aquaculture. *Clinical Infectious Diseases*. 2009; 49:1248-53.

HOHMANN, E.L. Nontyphoidal *Salmonellosis*. **Clinical Infectious Diseases**, v.32, p. 263-9, 2001.

HOLT, J. G. et al. Bergey's **Manual of determinative Bacteriology**, 9th. Baltimore, Maryland; Willians and Wilkins, p.787, v.2,1994.

JANA, S.; DEB, J.K. Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. **Applied microbiology and biotechnology**, 70: 140–150, 2006.

JEAN, S. S. et al. Recurrent infections caused by cefotaxime – and ciprofloxacin-resistant *Salmonella* enterica serotype choleraesuis treated successfully with imipenem. **Journal of Infection** v. 51, p. 163-165, 2005.

LANDINEZ, M. P. Ribotipificação de sequências intergênicas de isolados de *Salmonella* enterica subspécie enterica provenientes de produtos avícolas do Brasil, **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. 2013.

MAJOWICZ, S. E. et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. **Clinical Infectious Disease**, Boston, v. 50, n. 6, p. 882-889, 2010.

MATIAS, E. F. F. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora da resistência bacteriana a aminoglicosídeos de extratos polares e apolares de *Croton campestris* A.(velame), *Ocimum gartissimum* (alfavaca) e *Cordia verbanacea* DC.(erva-baleeira). **Crato, CE: Universidade Regional do Cariri-URCA**, 2010.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 26, de 9 de julho de 2009. Regulamento técnico para a fabricação o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. **D.O.U.** 10 de julho de 2009.

NATIONAL ANTIMICROBIAL RESISTANCE MONITORING SYSTEM – NARMS. **Human Isolates Final Report**, 2011. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, New York, USA, p.764-799.

Nicolaou, K. C.; Montagnon, T.; *Molecules that Changed the World*, Wiley-VCH: **Weinheim**, cap. 13, 2008

OLIVEIRA, J.F.P.; CIPULLO, J.P.; **BURDMANN, E. A. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. Brazilian Journal Cardiovascular Surgery**, 21: 444-452, 2006.

OTTO, S. J. et al. Estimating the number of human cases of ceftiofur-resistant *Salmonella* enteric serovar Heidelberg in Quebec and Ontario, Canada. **Clinical Infectious Diseases**, v. 59: 1281-1290, 2014.

PANDINI, J. A. et al. Occurrence and antimicrobial resistance profile of *Salmonella* spp. serotypes isolated from poultry farms in Paraná, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.82, Epub Apr 07, 2015.

PANDINI, Jessica Angela et al. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 20, p. 1-6, 2015.

PARANÁ – Programa Estadual de Controle de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal, no Estado do Paraná. **Levantamento do Uso e Comercialização de Medicamentos Veterinários em Frango de Corte**. 2005.

Patrick, G. L.; *An Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University Press: New York, 2005, cap.16; Patrick, G. L.; **An Introduction to Medicinal Chemistry, Oxford University Press: New York**, 1995, cap. 10.

Popoff, M. Y., and L. E. Le Minor. The genus *Salmonella*. **In: Brenner DJ, Krieg NR**, ed. 45, 2005.

PULIDO-LANDINEZ, M. et al. Assignment of serotype to *Salmonella enterica* isolates obtained from poultry and their environment in southern Brazil. **Letters in applied microbiology**, v. 57, n.4, p. 288-294, 2013.

REINHARD, M.K.; HOTTENDORF, G.H.; POWELL, E.D. Differences in the sensitivity of Fischer and Sprague-Dawley rats to aminoglycoside nephrotoxicity. **Toxicologic pathology**, 19: 66-71, 1991.

RIBEIRO, A. R. et al. Resistência antimicrobiana em *Salmonella enteritidis* isoladas de amostras clínicas e ambientais de frangos de corte e matrizes pesadas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. Belo Horizonte**. vol. 60, n. 5 (out. 2008), p. 1259-1262, 2008.

SIMÕES, M. et al. *Salmonella Enteritidis*: importância do inquérito epidemiológico, análise de alimentos e coprocultura na elucidação de 167 surtos alimentares. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.69, n.4, p. 497-502, 2010.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO – SINAN NET. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica**, Coordenação Geral de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília, 2014.

Staley J. T. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, 2nd ed.; Vol. 2, Springer,

SU et al. Development of carbapenem resistance during therapy for non-typhoid *Salmonella* infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v.18, p.E91-E94, 2012.

SU, L. H. et al. Antimicrobial Resistance in Nontyphoid *Salmonella* Serotypes: A global Challenge. **Clinical Infectious Diseases**, v.39, pg. 546-51, 2004.

TAMANG, M. D. et al. Emergence of extended-spectrum b-lactamase (CTX-M-15 and CTX-M-14)-producing nontyphoid *Salmonella* with reduced susceptibility to ciprofloxacin among food animals and humans in Korea. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 7, p. 2671-2675, 2011.

TAVECHIO, Ana Terezinha. Comparação fenotípica e genotípica entre cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 1, 4 [5], 12: i-e de *Salmonella typhimurium*. 2006.

THRELFALL, E. J. Epidemic *Salmonella Typhimurium* DT104 – a truly international multiresistant clone. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 46, n. 1, p. 7-10, jul. 2000.

VAN BAMBEKE F. et al. Quinolones in 2005: na update. **Clin Microbiol Infect.** 2005;11(4):256-80. Review. Erratum in: Clin Microbiol Infect. 2005;11(6):513

VOSS-RECH, D. et al. A temporal study of Salmonella enterica serotypes from broiler farms in Brazil. **Poultry Science**, Champaign, v. 94, n.3, p. 433-441, 2015.

Walsh, C.; Antibiotics: Actions, Origins, Resistence, **ASM Press**: Washington, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Salmonella epidemiology** - WHO, 2010. Disponível em: <http://www.safe-poultry.com/salmonellaepidemiology.asp>. Acesso em maio, 2016.